

実験的佝僂病に関する研究*

第5篇 Vitamin D 大量療法の血清アルカリ性フォスファターゼ並びに骨レ線所見に及ぼす影響について

三 谷 宗 夫

札幌医科大学小児科学教室 (主任 南浦教授)

Experimental Studies on Rickets

V. Influence of Large Dosis of Vitamin D on Serum Alkaline Phosphatase Activity and Roentgenological Findings of the Bone of Rachitic Rabbits

By

MUNEO MITANI

Department of Pediatrics, Sapporo University of Medicine

(Chief: Prof. K. MINAMIURA)

佝僂病の発現とともにその活性度を増加する血清アルカリ性フォスファターゼ (以下 SAP と略すことあり) は佝僂病の治療傾向とともに、その活性度の減少を来すことは、既に Kay¹⁾ により明かにされており、私²⁾ も既に佝僂病患児に Vitamin D (以下 V-D と略すことあり) を投与して、その治療過程における SAP の消長を観察した。しかし乍ら V-D と SAP との関係については未だ決定的な見解はなく、Fanconi³⁾ はアルカリ性フォスファターゼは V-D の Cofermentwirkung によつて活性化されるのであらうと述べ、また Zetterström 等⁴⁾ も水溶性 V-D₂ P を用いて V-D が腎、小腸、骨から得たアルカリ性フォスファターゼを活性化することを証明して、V-D 作用に酵素的解釈を与えているが、さらに Raihä 等⁵⁾ は V-D 投与によつて Co-Carboxylase の合成が促進されることを認め、V-D が生体内の磷代謝の一部即ち Vitamin B₆ の附隣に関係していることを報じている。

従来佝僂病治療に用いられる V-D の投与形式も種々であるが、本実験においてはそれらの差異により、佝僂病の治療過程、特に SAP、レ線像に如何なる変化を来すかを検するために動物実験を行つた。

実験資料及び実験方法

1) 実験動物並びに飼料

第4報に述べた如く、家兎佝僂病発生のためには生後1

箇月前後の仔兎を使用し、暗室内にて藤巻氏佝僂病食餌を与え、3~4 週後レ線の並びに SAP 値より佝僂病の確定したものを使用した。

2) V-D₂ 及び V-D₃ の非経口的投与としてチョコラ D₂ 及び D₃ の臀部筋肉内注射、経口的投与としてチョコラ D 滴をゾンデにて投与した。

3) 血清アルカリ性フォスファターゼ (SAP) 血清無機磷 (P) 血清総カルシウム (Ca) の測定方法は第4編に述べたと同一の方法によつた。血清カルシウムイオン (Ca⁺⁺) の測定は柳沢氏法⁶⁾ により 0.00025 M, クロールフェノールアジジオキナフタリジンスルホン酸ナトリウム溶液、4% 尿酸安門溶液及び二規定苛性ソーダ溶液を使用し、結合カルシウム量を測定し、総カルシウムより引き両者の差を以て Ca⁺⁺ とした。

4) レ線像は両前膊骨端を比較したが、治療効果比較のため、特にその投与前のレ線像において同程度の病像を示したものを選んで群に分ち、V-D 投与後逐日的に検索した。

実験成績

1) 正常家兎に V-D を筋注せる群 (第1図): V-D₂ V-D₃ とともに体重当り 5 万単位筋注せるものであるが、SAP は何れも極く軽度の減少を示し、Ca⁺⁺ はやや増加の傾向を示すも、Ca 及び P には著しい変化を認めない。

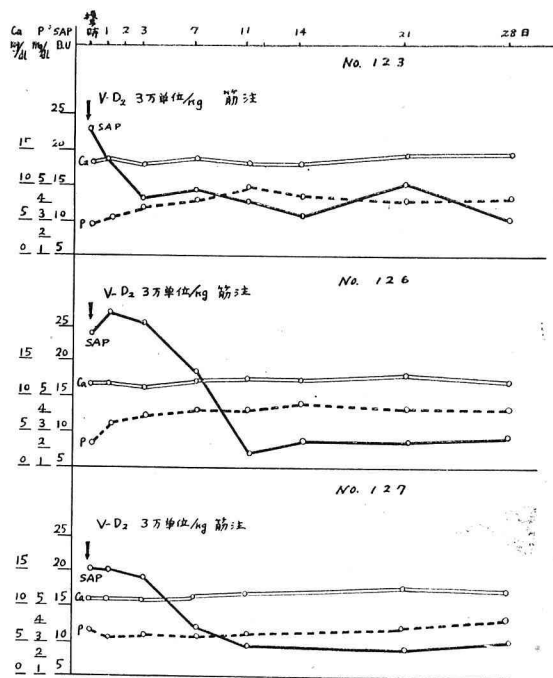
* 本研究費は北海道科学研究費補助金によつた。ここに深甚の謝意を表す。なお本論文の要旨は第6回北日本小児科学会 (昭和29年10月) 及び北海道医学会第33回大会 (昭和29年10月) において発表した。

2) 佝偻病家兎に $V-D_2$ 当り 3 万単位を筋注せる群 (第 2 図): SAP は第 1 例 (No. 123) では割合順調な低下を認めるも, 第 2 例 (No. 126) では最初軽度の上昇の後に著明な減少を認め, 11 日以後にはほぼ正常値をとり, 第 3 例 (No. 127) では 3 日目までは著明な変動を示さず, 5 日頃より減少を示すに至り, 11 日よりは同様正常範囲内の値をとるに至つた。P は第 1, 2 例ではかなり急激な上昇を示すも, 第 3 例では極く軽度の漸進的な増加が認められた。Ca は著変が認められなかつた。

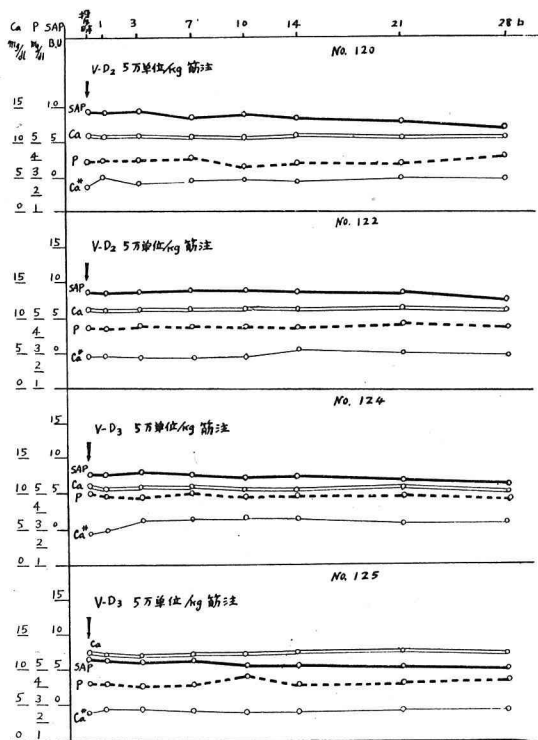
3) 佝偻病家兎に $V-D_2$ 当り 3 万単位を経口授与せる群 (第 3 図): SAP においては, 第 3 例 (No. 69) が 24 時間にて一時的に軽度の上昇を認めたが, 他の 2 例 (No. 61, 62) には 3 日目までは軽度ではあるが, 順調に低下し, 7 日にしてほぼ正常値に近い値をとつている。Ca には著変なく, P は軽度の上昇を認めた。

4) 佝偻病家兎に $V-D_2$ 当り 5 万単位を筋注せる群 (第 4 図): SAP は全例に授与後既に 2 日目にして著明な減少を示して、4~7 日目で 10 B.U 程度の値となり、以後正常範囲内の変動を認める程度である。P は漸次増加の傾向を示したが、Ca⁺⁺ は軽度の減少を示した。

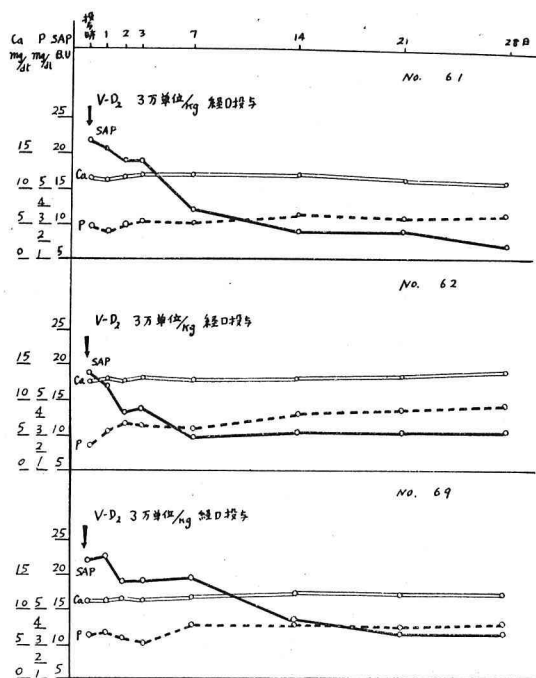
5) 佝偻病家兎に $V-D_3$ 当り 5 万単位を筋注せる群 (第



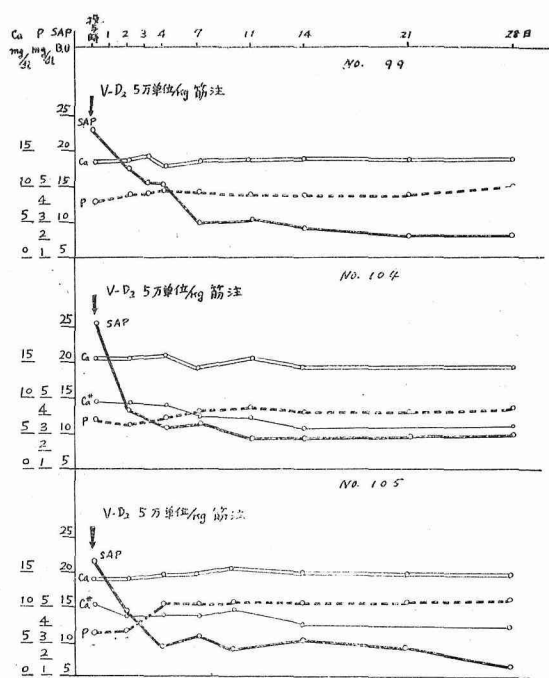
第 2 図 Vitamin D_2 の佝偻病家兎血清に及ぼす影響 (当座 3 万単位筋注)



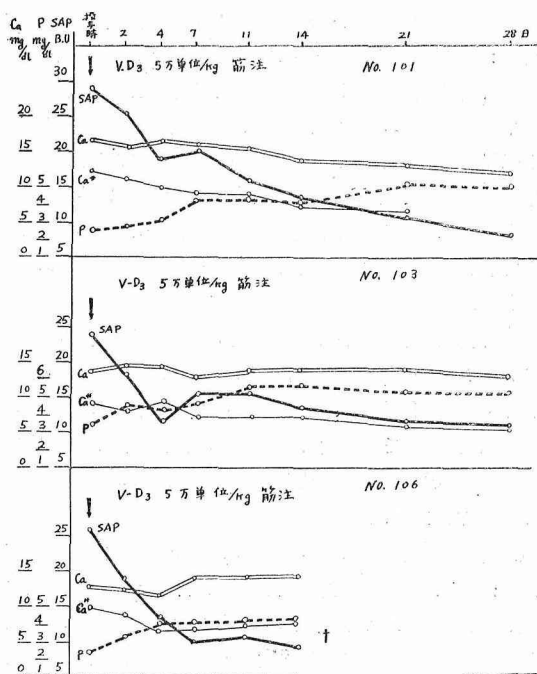
第 1 図 Vitamin D_2 及び D_3 の正常家兎血清に及ぼす影響



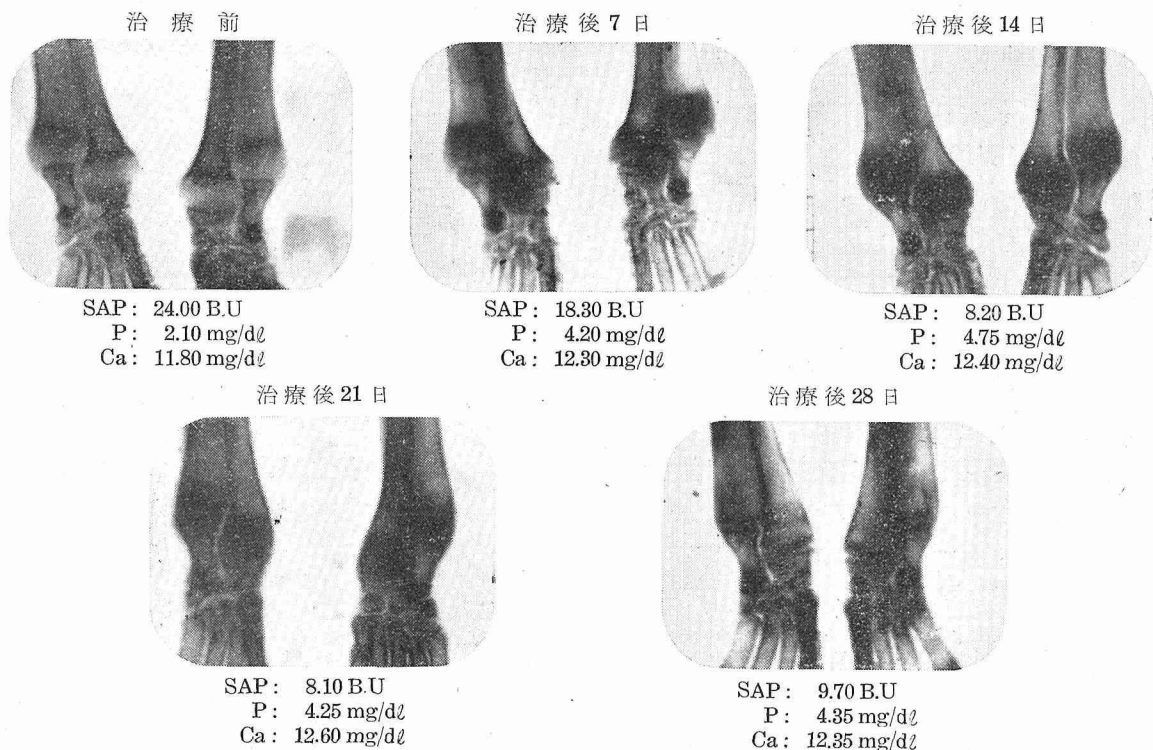
第 3 図 Vitamin D_2 の佝偻病家兎血清に及ぼす影響 (当座 3 万単位経口授与)



第4図 Vitamin D₂ の佝偻病家兎血清に及ぼす影響 (当剤 5 万単位筋注)



第5図 Vitamin D₃ の佝偻病家兎血清に及ぼす影響 (当剤 5 万単位筋注)



第6図 No. 126 Vitamin D₂ 当剤 3 万単位筋注

5図): V-D₂の際と同様投与後2日目にてかなりの減少を認め、2例において7日後に一時的な増加を認めたが、以後順調な低下を示している。Pはかなり著明な上昇を示し、Ca⁺⁺はV-D₂の際と同様程度の減少が認められた。

6) レ線像所見: 第6図以下に示す如く、V-D投与後のSAPの低下の程度とレ線像における治癒経過とは殆ど一致している。

総括並びに考按

1) 佝僂病におけるSAPの活性度の上昇: については種々意見があり、Fanconi¹⁰⁾は生体が要求する燐をその分解能によつて得んための上昇であるが、佝僂病においては必要とするPとSAPを活性化するV-Dが欠乏するので目的を達し得ないのであるといい、久保⁷⁾は代償的に活性度を増しているのであると述べている。佝僂病におけるこの活性度の高いSAPもV-Dの投与により、実験成績より明かな如く、何れの場合も、治療傾向とともにその低下を示すことが認められる。しかし対照の正常家兎群における軽度の活性度の低下はV-Dの作用よりは、成長に伴う生理的減少と思われる。Weiss⁸⁾は佝僂病のV-D治療後にはSAPは大多数の例において多かれ、少なかれ、速かに低下し、一部は緩慢ではあるが、低下は継続的に正常

値までなされ、時に最初の低下の後にかかなり高い値を保つことがある。また少数例では低下するに先立ち、一過性の上昇を認めると述べている。Yieh⁹⁾は最初の低下につづいて一過性の上昇を認め、その後始めて決定的な正常化を来すという。しかしかかるSAP値の変動を言々する際は本実験よりしても明かなる如く、V-D投与前のSAP活性度の上昇程度、及びV-D投与量並びに投与方法によりその低下の様式は異なってくる。即ち正常家兎における如く、SAPの活性度が割合低い値を示す時は、殆ど影響を与えないが、佝僂病性変化を示して、かなり高い値を示す時は、反応は敏感であり、さらにV-D₂を当5万単位投与せる時は、当底3万単位投与せる時より低下は、より速に行われた。同単位では経口投与の方が、非経口投与に比し、SAPがより漸進的に低下した例が多かつたが、全般的に著明な差異は認められなかつた。V-D₂とV-D₃の効果比較については多くの人々によりその優劣が論ぜられているが¹⁰⁾、投与方法、即ち経口、非経口投与及び量的関係において検索せられねばならないので、その決定には多くの困難が伴うのであるが、現在大勢はV-D₃がV-D₂にやや勝るといふ方向に傾いている。即ちJochim¹¹⁾、Nadrai¹²⁾等是非経口的投与においてはV-D₂、V-D₃はほぼ同程度の効力を有すると主張するに反し、Auhagen¹³⁾はV-D₃はV-D₂の

治療前



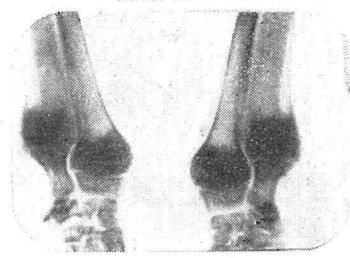
SAP: 18.10 B.U
P: 2.30 mg/dl
Ca: 13.30 mg/dl

治療後7日



SAP: 9.70 B.U
P: 3.70 mg/dl
Ca: 13.30 mg/dl

治療後14日



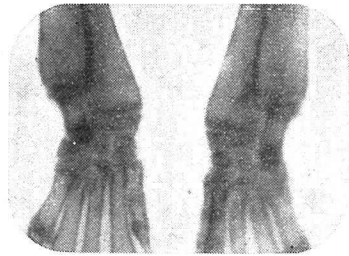
SAP: 10.30 B.U
P: 4.35 mg/dl
Ca: 13.45 mg/dl

治療後21日



SAP: 10.05 B.U
P: 4.40 mg/dl
Ca: 13.60 mg/dl

治療後28日



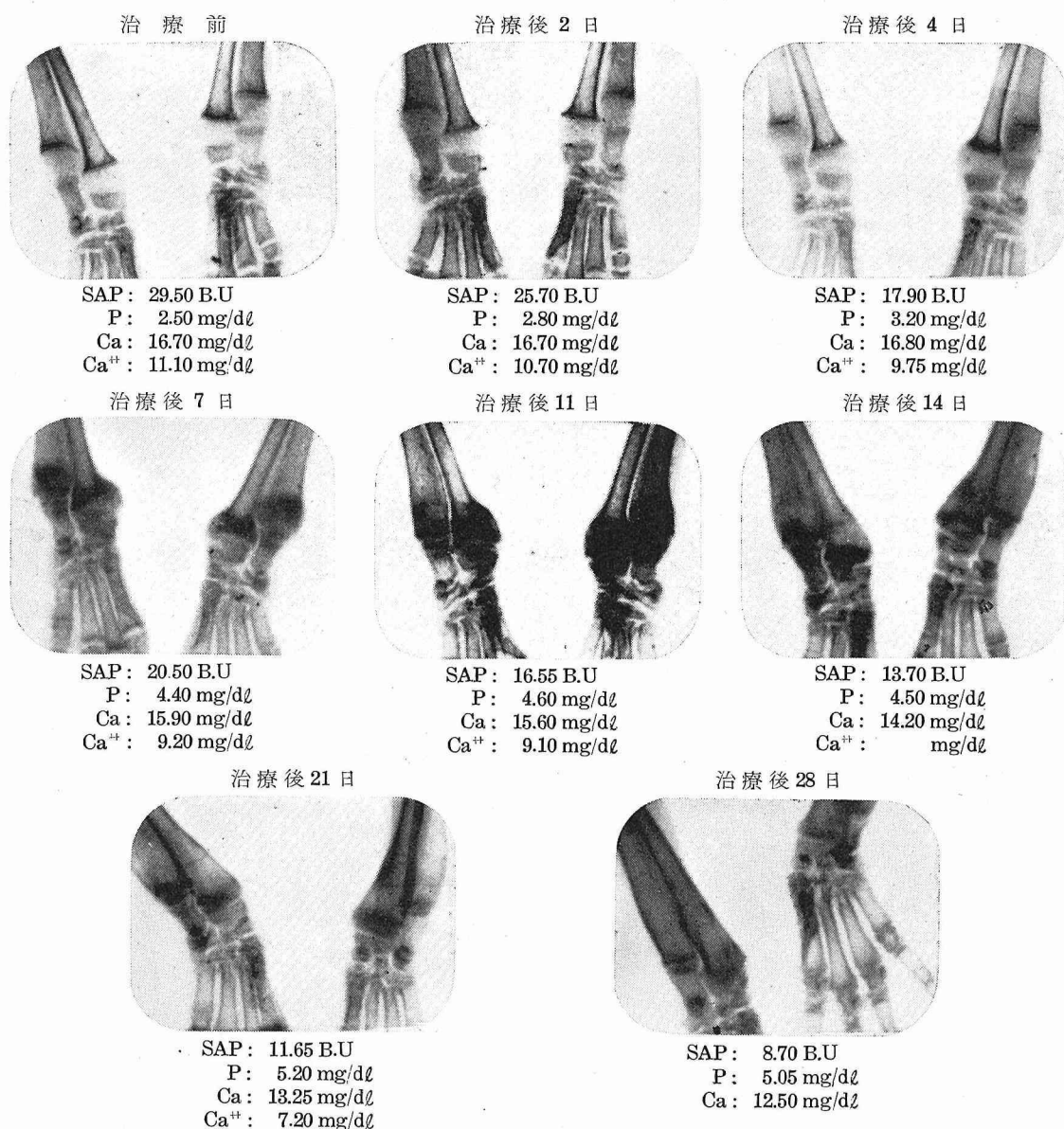
SAP: 10.55 B.U
P: 4.75 mg/dl
Ca: 13.90 mg/dl

第7図 No. 62 Vitamin D₂ 当底3万単位経口投与

3/4 量で同じ効果を挙げ得るとなし、Harnapp¹⁰⁾は特に石灰沈着の点で V-D₃ が勝ると報告している。本実験においては SAP の低下様式、またレ線像より石灰沈着の状態よりして、両者の間には差は認め難い。

2) V-D の投与と P Ca の消長： 正常の人間及び動物に対しては V-D はその Ca 及び P の代謝には殆ど認むべき作用がないという報告と^{14), 15)} 正常人でも V-D 投与により Ca の上昇を認めたという報告¹⁶⁾ があるが、本実験では正常家兎においては Ca 及び P とともに一時的に増加せる例

もあるが、全体としては一定の変動を認めない。一方佝僂病においては V-D の投与は P 及び Ca を増加するといわれ、Wiener¹⁷⁾ はビガントールを与え、Hess-Lewis¹⁸⁾ は照射エルゴステリンを与えて、何れも Ca の上昇を認めている。最近久保¹⁹⁾ は実験的ラット佝僂病において、V-D を経口的に 100~500 単位を毎日投与し、1 週後には著明な増加を認め、3 週目には減少の傾向を認めたというが、V-D の投与量と Ca 量との間には平行関係は認められなかつたという。本実験においては Ca は漸減する例が 1 例あるが



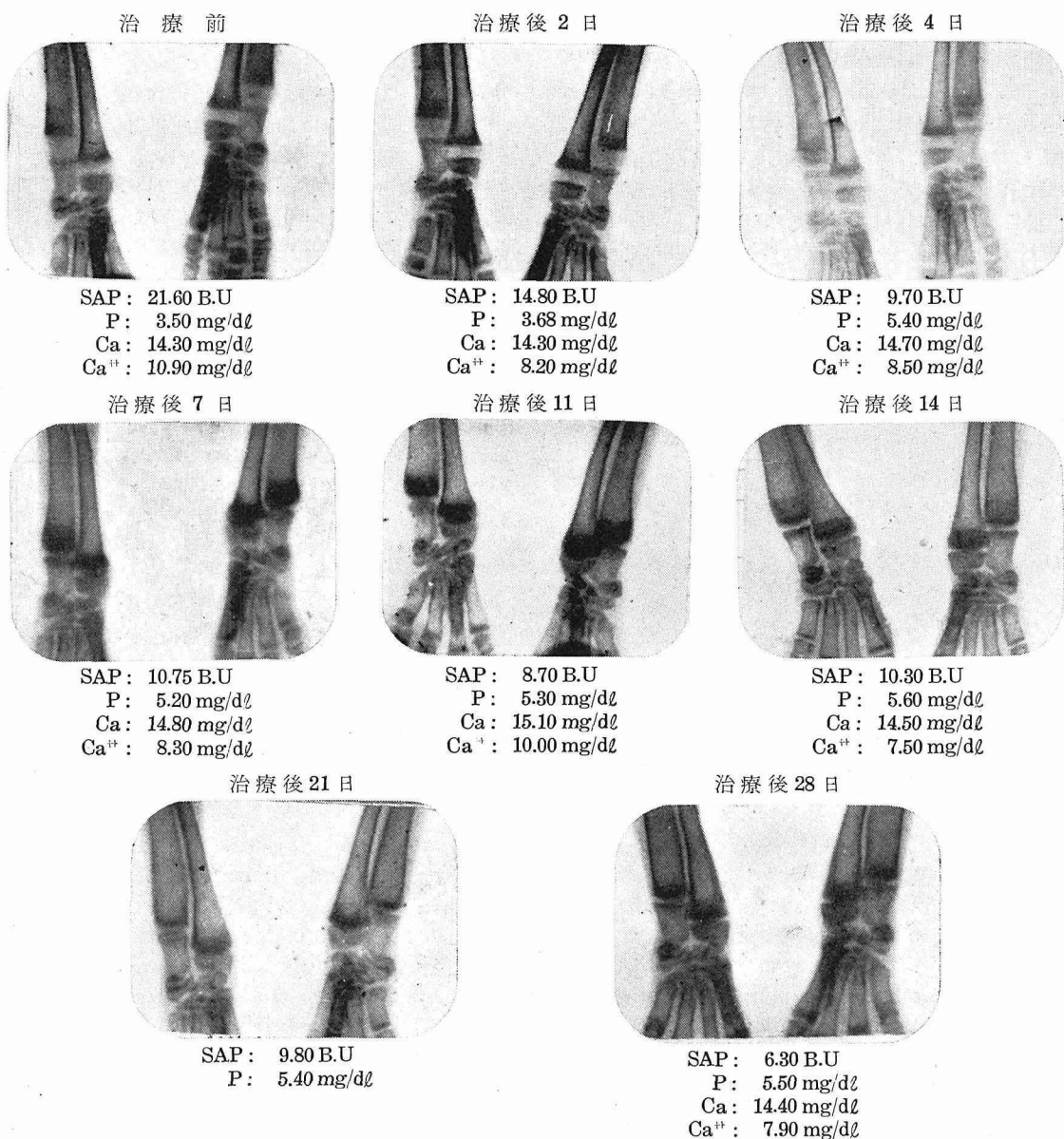
第 8 図 No. 101 Vitamin D₃ 当坭 5 万単位筋注

大多数では漸増する傾向をとり、V-Dの量とは無関係に思われた。また Ca^{++} は佝僂病家兎においてV-D投与後漸減せる例が多かつた。PはCaに比し、その変動が著明で、V-D当班3万単位、5万単位何れも投与後2~3日、遅くても1週以内にはかなりの上昇が認められた。

Nicolaysen²⁰⁾はV-DのCaに対する特異的作用を指摘し、その腸管からの吸収に対してのみ作用するのであると述べているが、Pincus²¹⁾は初生児にV-Dを与えて、人乳よりも燐が3~4倍多く含む食餌で養われた方にCa低

下が認められたことを報告している。V-DのCaに対する影響について多くの報告者の成績が必ずしも一致しない点からも、P及びCaの変動はおそらく、V-D投与前の生体のP、Ca量、並びに食物中のカルシウム、燐量によつても或程度影響されるものと思われる。

3) レ線所見：和久井²²⁾は1年未満の佝僂病児でV-D₂の大量療法により、既に4日目に骨端部に石灰沈着の開始を認めている。私も臨床的に多くの例においてV-D₂大量衝撃療法により1週以内に石灰沈着を示し、速かに治癒



第 9 図 No. 105 Vitamin D₂ 当班 5 万単位筋注

の傾向をとることを認めている。本実験においては V-D₂ 当量 5 万単位投与せる例では既に 2 日目において、また当量 3 万単位では 3~4 日目より明かにレ線像において石灰沈着を認めたもの多く、当量 5 万単位投与においては 2 週目、当量 3 万単位投与においては 3~4 週目には殆ど治療して、正常の骨端の所見を示した。量的には多い方が治療経過も速かであつたが、V-D₂ と V-D₃ 並びに経口投与、非経口投与との比較においては、その差異は石灰沈着の程度に個体差と思われる程度のものであるが、著明ではなく、全例においては順調なる治療傾向を認めた。しかしながら一般にレ線像における効果は V-D 投与前の佝僂病性変化が軽度であればあるほど、V-D の同一量に対して効果は早期にあらわれ、治療経過も早いように思われる。故に効果判定に当つて、その投与前のレ線像により、その病像の程度を明かにせねば、効果の判定は同一に論ずることは出来ない。本実験においてかかる点に特に留意した。

結 論

- 1) Vitamin D により佝僂病家兎の血清アルカリ性フォスファターゼは低下し、正常値に戻つたが、その変動はレ線像の治療経過によく一致した。
- 2) Vitamin D₂ 当量 5 万単位筋注せる群は当量 3 万単位筋注群に比し、血清アルカリ性フォスファターゼの低下は早期に、著明に認められた。
- 3) Vitamin D₂ の同一量における経口的投与群と非経口的投与群の間、及び同一量の Vitamin D₂ と Vitamin

D₃ との間の比較において血清アルカリ性フォスファターゼの低下過程、並びにレ線像治療過程において著明な差異を認め得なかつた。

(昭和 30. 7. 18 受付)

文 献

- 1) Kay: J. Biol. Chem. **89**, 249 (1930).
- 2) 山内・三谷: 札幌医誌 **3**, 61 (1952).
- 3) Fanconi: Lehrbuch d. Pediatie **183** (1952).
- 4) Zetterström: Vitamin **5**, 543 (1952).
- 5) Rähä: Science **115**, 242 (1952).
- 6) 柳沢: 日本医事新報 **1475**, 32 (1952).
- 7) 久保: 日本病理学会雑誌 **40**, 7 (1951).
- 8) Weiss: Archiv. Kinderheilk. **141**, 22 (1951).
- 9) Yieh: Ann. paed. **152**, 348 (1938) Cit. 8).
- 10) 佐野: 新潟医学会雑誌 **67**, 891 (1953).
- 11) Jochim: Archiv. Kinderheilk. **142** (1951) Cit. 10).
- 12) Nadrai: Archiv. Kinderheilk. **113** (1930) Cit. 9).
- 13) Auhagen: Z. Naturforschg **4**, 219 (1949).
- 14) Havard: Biochem. J. **22**, 713 (1928).
- 15) Brown: J. Biol. Chem. **86**, 245 (1930).
- 16) Kaminsky: Cit. ビタミン (下) 663.
- 17) Wienen: Mschr. Kinderheilk. **45**, 53 (1929).
- 18) Hess: J. Am. Med. Ass. **91**, 783 (1930).
- 19) 久保: 日本小児科学会雑誌 **57**, 706 (1953).
- 20) Nicolaysen: Biochem. J. **31**, 107, 122, 323 (1937).
- 21) Pincus: Pediatrics **13**, 178 (1954).
- 22) 和久井: 児科診療 **14**, 12 (1951).

Summary

The serum alkaline phosphatase activity and roentgenological findings of the bone of rachitic rabbits treated with vitamin D were investigated with the following results.

1) The serum alkaline phosphatase activity of rachitic rabbits decreased to normal value following vitamin D administration. The process of the decrease of serum alkaline phosphatase activity corresponded to the healing process of roentgenological findings of the bone.

2) The serum alkaline phosphatase activity in the group injected intramuscularly with 50,000 U/kg of vitamin D₂ decreased more rapidly and more significantly as compared to that in the group injected intramuscularly with 30,000 U/kg of vitamin D₂.

3) No difference was observed in the effect on the serum alkaline phosphatase activity and roentgenological findings between the following 2 groups: Group 1 was treated by oral and parenteral administration of vitamin D₂ in the same dosis and group 2 was treated by parenteral administration of vitamin D₂ and vitamin D₃ in the same dosis.

(Received July 18, 1955)